淺談甜瓜白粉病抗性基因

農試所生技組 林思妤　農試所農場組 王毓華

一、前言

甜瓜（*Cucumis melo L.*）為葫蘆科一年生作物，俗稱美濃瓜、哈密瓜、香瓜及洋香瓜。根據聯合國糧農組織（Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO）統計，近30年來全球甜瓜栽培面積及產量持續攀升，至2016年栽培面積約125萬公頃，產量約3千萬噸，為全球重要高經濟價值作物之一。甜瓜性喜溫暖、多日照的環境，台灣主要產區為雲嘉南及高屏地區，採露天或設施栽培，露天栽培大多以PE塑膠布隧道棚匍匐式栽培，設施栽培則以溫室栽培為主，這些栽培方式雖具保溫、調節產期及提高果實品質等優點，但也因較不通風且無雨水沖刷反而成為甜瓜重要病害-白粉病之溫床，嚴重時不只造成產量品質下降，甚至全株枯萎無法收成。

白粉病孢子飄散距離遠且無孔不入，台灣的甜瓜栽培幾乎全年難逃其害，目前雖能以農藥防治，但對環境、農民及消費者健康有潛在危害，且若錯過防治階段則一發不可收拾，農民心血付之一炬，因此育成抗白粉病甜瓜品系為當務之急並為治本之道。近三十年來分子輔助育種蓬勃發展，相較於傳統育種僅從外表型（外表型態）進行選育，分子輔助育種從基因體（DNA）及轉錄體（RNA）層級探討各種特性之基因位置，並設計分子標誌輔助篩選帶有目標基因之個體，使育成新品種的時間大幅縮短。因此本篇彙整前人甜瓜抗白粉病之基因體及轉錄體資訊，冀能有助於抗白粉病甜瓜品種之育成。

作　　者：林思妤助理研究員
連絡電話：04-23317355

二、甜瓜白粉病發病情形

根據研究，台灣甜瓜之白粉病是由*Podosphaera xanthii* 病原菌所引起，可在甜瓜全生育期中發生，其孢子藉由風力傳播，在冷涼（20-28℃）、少雨的環境下易發病，初期感染呈現白色粉狀圓點（圖一），感染嚴重則白粉遍佈莖、葉及果實（圖二），影響植株行光合作用，最終導致產量下降甚至全株凋亡。白粉病為絕對寄生菌，寄主包含葫蘆科、茄科、豆科及果樹等，因此田區四周之農作物、樹及雜草等也常為白粉病寄主，只要溫度、濕度合適，甜瓜即受感染，十分難防治。

三、甜瓜抗病基因與白粉病生理小種錯綜複雜的關係

甜瓜白粉病為全球共通病害，根據研究已可能有超過28個生理小種，由於甜瓜抗病基因對白粉病生理小種具專一性，也就是同一甜瓜品種只抗白粉病某些生理小種，因此隨著病原菌族群的變化（不同地區、時期盛行的生理小種不同），可能有抗白粉病品種突然不抗病之情形發生，造成農民的疑惑。然而實際上並非該甜瓜品種失去抗性，而可能是不同的白粉病生理小種在該地區出現或增加，而該甜瓜品種對新出現的生理小種不具抗性。法國學者Pitrat 於1998年提出甜瓜白粉病生理小種鑑別方法，利用7個甜瓜鑑別品種區分出5個生理小種，分別為生理小種0、1、2U、2E、3、4及5，依照此方法，台灣目前已發現白粉病生理小種 1及生理小種 5，以生理小種1較普遍（黃及王，2007）。

如同上段所述，甜瓜不同品種（具有不同抗病基因）可抗的白粉病生理小種不同，因此國際上已有許多學者深入探討甜瓜抗病基因與白粉病生理小種的關係。然而，雖然已有多篇研究定位出甜瓜白粉病抗性基因座，不過研究結果較難整合，造成育種上難利用這些抗性資訊，原因歸納為以下兩點：

1. 各研究接種不同之白粉病生理小種：部分研究僅接種單一白粉病生理小種，並種於隔離溫室或生長箱避免空氣中其它生理小種孢子感染，此類型研究較易確立甜瓜品種及白粉病生理小種之關係；但部分研究同時接種多個生理小種或於田間自然發病，因此難釐清甜瓜抗性基因及白粉病生理小種之關係。
2. 白粉病生理小種多且鑑別方式不同：白粉病病原菌經分離純化後，使用鑑別品種將之定義為不同生理小種，因此若使用不同系統之鑑別品種，同一支生理小種可能被歸類成不同生理小種名稱。

圖一、初期感染呈現白色粉狀圓點。

圖二、感染嚴重則白粉遍佈莖、葉及果實。

基於上述原因，甜瓜白粉病抗性基因與白粉病生理小種間的關係仍難以釐清，因此下一章節筆者統整目前已發表之抗性基因座，冀能有助於甜瓜抗白粉病品系之育成。

四、甜瓜白粉病抗性相關基因及遺傳機制

甜瓜白粉病為全世界共通之課題，目前甜瓜的白粉病抗性基因已找到數十個數量性狀基因座（Quantitative trait locus, QTL），但仍未有任一抗性基因被解序。甜瓜白粉病抗性 QTL 已被定位於第2、5及12號染色體（表一），在第二條染色體上的有*Pm-x1,5*、*Pm-x3*、*qPM2*、*Pm-Edisto47*、*Pm-2F*、*Pm-pxA*及*pm-x*，前6個基因座位在染色體前端，與 CMBR41、CMBR120、CMBR8 分子標誌遺傳距離相近；*pm-x* 位於2號染色體尾端，與甜瓜抗矮南瓜黃化病毒基因座 *Zym* 及西瓜嵌紋病毒-2基因座 *Wmr* 連鎖（Fazza et al.,2013；Zhang et al., 2013；Ning et al., 2014；Wang et al., 2016）。白粉病抗性基因座 *Pm-w*、*Pm-AN*、*Pm-R5*、*Pm-R1-2*及*PmV.1* 被定位於5號染色體，前4個基因座皆與粉蝨及病毒抗性基因 *Vat* 連鎖（Wang et al., 2011；Yuste-Lisbona et al., 2011)。*PmXII.1* 及 *Pm-pxA/B* 位於12號染色體，*Pm-pxA/B* 與 CMBR111 及 CMBR150 分子標誌連鎖（Perchepied et al., 2005；Fukino et al., 2008）。上述白粉病抗性基因座來自不同抗病品系及雜交分離族群，也因接種不同白粉病生理小種而有不同抗性表現，不過有趣的是即使植物材料及接種原不同白粉病抗性基因仍有聚集於同一區域之趨勢，如2號染色體前端及5號染色體 *vat* 附近。

在遺傳模式方面，研究指出甜瓜白粉病抗性可能由一至兩對主效基因控制，且多為顯性，如：*qPM2* 為顯性主效 QTL，可解釋75.85%之變異性；AR5品系對白粉病 race 1 之抗性QTL 位於第2及12條染色體，分別解釋12-13%及41-46%。另有研究指出可能由上位基因（digenic epistatic model）調控，如Pm-x1,5 及 Pm-x3 之 F_2 世代分離比與13:3無顯著差異。

五、甜瓜白粉病轉錄體研究

在轉錄體層面，Zhu等人(2017)比較甜瓜抗病品系 MR-1 與感病品系 Topmark 表現量之差異，發現10個基因可能與白粉病抗性有關，可歸類於7個功能：病原識別、訊息傳導、轉錄因子、植物抗禦素生合成、一次代謝、MLO(Mildew resistance locus O）基因家族及 PR (Pathogenesis-related) 蛋白質。Howlader等人 (2016) 探討不同白粉病生理小種對甜瓜MLO基因家族之影響，發現其中4個MLO基因對白粉病生理小種具有專一性。

除了由甜瓜轉錄體探討抗性基因，也可從白粉病病原菌轉錄體著手探討。白粉病病原菌*Podosphaera xanthii*基因體大小較其他真菌大 (>120 Mb)，2016年進行轉錄體定序，共發現53個候選效應蛋白（Candidate secreted effector proteins）可能與寄主和病原間交互作用相關，而部分候選效應蛋白在接種後24小時有最

大表現量，這與病原菌吸器入侵寄主細胞之時間相近，顯示寄主與白粉病間的攻防戰可能於接觸後24小時內即發生（Vela-Corcía et al., 2016）。

六、結語

白粉病常年為害全世界甜瓜產量及品質甚鉅，目前已有許多研究找到白粉病抗性基因座，多數位在第2、5、12號染色體上，惟各篇研究使用材料（雜交族群、生理小種、接菌環境汙染可能性等）不同，以及分離族群間無共通之分子標誌，使這些基因座資訊於育種上較難通用。未來可利用全基因體關聯性分析 (Genome-wide association study, GWAS)，配合單一核苷酸多行性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 較密集、物理位置明確、較易進行不同分離族群間比較等優

表一、甜瓜白粉病抗性基因

抗性基因座名稱	染色體	分離族群及個數	白粉病生理小種	鄰近分子標誌(類型)	文 獻
qPM2	2	TARI-08874×白梨瓜 F2族群(232及252)	race 1	CSJCT358–CMBR120間 (2.7 cM)	Wang *et al*., 2016
Pm-Edisto 47-1	2	Edisto47(抗性來自PI124112)×Queen BC1族群(632)	race 1	CMGA36與SSR252089間(4.2 cM)	Ning *et al*., 2014
Pm-x1,5	2	PI414723(抗race1、3、5)×Védrantais F2族群(87)	同時接種race 1、3、5	距CMBR41及CMBR120分別為23.3及32.6 cM	Fazza *et al*., 2013
Pm-x3	2	PI414723(抗race1、3、5)×Védrantais F2族群(87)	同時接種race 1、3、5	距Pm-x1,5 5.1 cM；距CMBR41及CMBR120分別為18.2及27.5 cM	Fazza *et al*., 2013
Pm-2F	2	K7-1×K7-2 RIL(106)	race 2F	CMBR120-CMBR8 (3.1 cM)	Zhang *et al*., 2012
Pm-pxA	2	AR5×Earl's Favourite(Harukei3) RIL(93)	race pxA	CMBR120-CMBR8 (4.8 cM)	Fukuno *et al*., 2008
Pm-x	2	抗性來自PI414723	race 1	CMGA36-E42/M31_219(25.2 cM)	Pitrat *et al*.,1991 Perin et al., 2002
Pm-w	5	抗性來自WMR29 (抗race1、2、3)	race 2	E46/M40_8-E35/M35_7 (11.8 cM)	Pitrat *et al*., 1991 Perin et al., 2002
Pm-AN	5	Ano2×Hami413F2族群(143)Ano2×Queen F2族群(118)	田間自然感染，鑑定為race 1	RPW-ME/E1(1.4 cM)	Wang *et al*., 2011
Pm-R5	5	TGR-1551×Bolade Oro F2族群(159)	同時接種race 1、2、5	與PM3-CAPs及MRGH5緊密連鎖	Yuste-Lisbona *et al*., 2011
Pm-R1-2	5	TGR-1551×Bolade Oro F2族群(159)	同時接種race 1、2、5	距Pm-R5 0.3 cM，與MRGH63緊密連鎖	Yuste-Lisbona *et al*., 2011
PmV.1	5	PI124112×Védrantais RIL(120)	分別接種race 1、2、3、4、5	-	Perchepied *et al*., 2005
PmXII.1	12	PI124112×Védrantais RIL(120)	分別接種race 1、2、3、4、5	-	Perchepied *et al*., 2005
Pm-pxA/B	12	AR5×Earl's Favourite(Harukei3) RIL(93)	分別接種race pxA及pxB	CMBR111-CMBR150 (6.6 cM)	Fukuno et al., 2008

勢，探討甜瓜白粉病抗性基因之位置。另外也可配合轉錄體資訊，開發功能性分子標誌 (functional marker) ，提升分子標誌輔助育種之精準度與效率，尤其可應用於堆砌多個抗病基因。

七、參考資料

黃晉興、王毓華 (2007)。台灣甜瓜白粉病菌*Podosphaera xanthii* 的生理小種。台灣農業研究56:307-315。

Chang, C. W., Wang, Y. H., & Tung, C. W. (2017). Genome-wide single nucleotide polymorphism discovery and the construction of a high-density genetic map for melon (*Cucumis melo* L.) using genotyping-by-sequencing. Frontiers in plant science, 8, 125.

McCreight, J. D. (2006). Melon-powdery mildew interactions reveal variation in melon cultigens and *Podosphaera xanthii* races 1 and 2. Journal of the American Society for Horticultural Science, 131(1), 59-65.

Ning, X., Wang, X., Gao, X., Zhang, Z., Zhang, L., Yan, W., & Li, G. (2014). Inheritances and location of powdery mildew resistance gene in melon Edisto47. Euphytica, 195(3), 345-353.

Perchepied, L., Bardin, M., Dogimont, C., & Pitrat, M. (2005). Relationship between loci conferring downy mildew and powdery mildew resistance in melon assessed by quantitative trait loci mapping. Phytopathology, 95(5), 556-565.

Périn, C., Hagen, L., De Conto, V., Katzir, N., Danin-Poleg, Y., Portnoy, V., ... & Pitrat, M. (2002). A reference map of *Cucumis melo* based on two recombinant inbred line populations. Theoretical and Applied Genetics, 104(6-7), 1017-1034.

Vela-Corcía, D., Bautista, R., de Vicente, A., Spanu, P. D., & Pérez-García, A. (2016). De novo analysis of the epiphytic transcriptome of the cucurbit powdery mildew fungus Podosphaera xanthii and identification of candidate secreted effector proteins. PloS one, 11(10), e0163379

Wang, Y. H., Wu, D. H., Huang, J. H., Tsao, S. J., Hwu, K. K., & Lo, H. F. (2016). Mapping quantitative trait loci for fruit traits and powdery mildew resistance in melon (*Cucumis melo*). Botanical studies, 57(1), 19.

Zhang, C., Ren, Y., Guo, S., Zhang, H., Gong, G., Du, Y., & Xu, Y. (2013). Application of comparative genomics in developing markers tightly linked to the Pm-2F gene for powdery mildew resistance in melon (*Cucumis melo* L.). Euphytica, 190(2), 157-168.

Zhu, Q., Gao, P., Wan, Y., Cui, H., Fan, C., Liu, S., & Luan, F. (2018). Comparative transcriptome profiling of genes and pathways related to resistance against powdery mildew in two contrasting melon genotypes. Scientia Horticulturae, 227, 169-180.